IKKβ in postnatal perichondrium remotely controls endochondral ossification of the growth plate through downregulation of MCP-5(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Kobayashi, Kyosuke

京都大学	博士（　医学　）	氏名	小　林　恭　介
論文題目	IKKβ　in postnatal perichondrium remotely controls endochondral ossification of the growth plate through downregulation of MCP-5 （出生後軟骨膜におけるIKKβはMCP-5の発現抑制を介して成長板内軟骨性骨化を間接的に制御する）		

（論文内容の要旨）

【目的】IKKβはIKKα及びNEMOとともに、IKK シグナロソームを形成し、炎症や免疫反応の惹起を介して様々なシグナル伝達系の活性化に関与している．IKKβはClassicalなNF-κBシグナル伝達系においては、NF-κBの核移行を促進することで、アポトーシス、分化あるいは増殖の制御を介して細胞や組織のホメオスターシスに関与している．更に近年ではNF-κB シグナル伝達系以外のシグナル伝達にも関与していることが示されている．骨組織への関与に関しては破骨細胞形成における IKKβの役割は解明されているが、一方で骨形成における役割は未だ解明されていない。我々はマウス発生工学的手法を用いて細胞系譜特異的に *Ikkβ*遺伝子を欠失させることにより骨及び軟骨組織形成における IKKβの役割を解明することを試みたので報告する．

【方法】*Ikkβ*ノックアウトマウスは胎生致死となる．そこで我々は*Prx1*-Cre、*Col1a1*-Cre、*Col12a*-Creという細胞系譜特異的にCre を発現する 3 系統のマウスと交配させることで、*Ikkβ*のコンディショナルノックアウトマウスを作製し、解析を行った．

【結果】*Ikkβ*$^{F/F}$;*Prx1*-Cre マウスは出生直後には明らかな異常は認めなかったが、2 週齢以降、比較対照群のマウスに比べて四肢の短縮を認めた．そこで長管骨の形態を解析したところ、成長板の長さが短縮しており、層別の解析から短縮は肥大軟骨層の短縮に起因するものであることが判明した．一方、*Ikkβ*$^{F/F}$;*Col1a1*-Cre 及び *Ikkβ*$^{F/F}$;*Col2a1*-Cre マウスには、このような表現型は観察されなかった。これらの結果より、観察された肥大軟骨層の短縮は、Col1a1 陽性骨芽細胞及びCol2a1 陽性軟骨細胞以外の細胞における Ikkβ欠損に起因するものであることが示唆された。一つの可能性として成長板周囲に存在する細胞が産生する液性因子の変化を想定し、軟骨膜細胞において候補遺伝子の発現解析を行ったところ、*Ikkβ*$^{F/F}$;*Prx1*-Cre マウスでmonocyte chemoattractant protein-5 (Mcp-5)の発現が増加していた．Ex vivo においてMcp-5 は長管骨の長軸方向への成長を抑制した．in vitro ではMEF でIkkβをノックアウトすることでMcp-5 の発現が増加し、IkkβはMcp-5 の発現を細胞自律的に抑制していることがわかった．

【結論】IKKβは 成長板周囲細胞からの液性因子の発現を制御することで、内軟骨性骨化の過程に関与している．

（論文審査の結果の要旨）

IKKβはNFκB シグナル伝達系における重要な制御因子であり、骨組織に関しても骨吸収に関する関与が報告されているが、骨形成における *IKKβ*の役割は未だ解明されていない。そこでマウス発生工学的手法を用いて細胞系譜特異的に Ikkβ遺伝子を欠失させることにより骨形成過程におけるIKKβの役割を解明することを試みた。*Ikkβ*$^{F/F}$;*Prx1*-Cre マウスは出生直後には明らかな異常は認めなかったが、2 週齢以降、比較対照群のマウスに比べて四肢の短縮を認めた。長管骨の形態を解析したところ、成長板の長さが短縮しており、層別の解析から短縮は肥大軟骨層に起因するものであることが判明した。一方、*Ikkβ*$^{F/F}$;*Col1a1*-Cre 及び *Ikkβ*$^{F/F}$;*Col2a1*-Cre マウスには、このような表現型は観察されなかった。これらの結果より、観察された肥大軟骨層の短縮は、Col1a1 陽性骨芽細胞及びCol2a1 陽性軟骨細胞以外の細胞におけるIkkβ欠損に起因するものであることが示唆された。一つの可能性として成長板周囲に存在する細胞が産生する液性因子の関与を想定し、軟骨膜細胞において候補遺伝子の発現解析を行ったところ、*Ikkβ*$^{F/F}$;*Prx1*-Cre マウスでmonocyte chemoattractant protein-5 (Mcp-5)の発現が増加していた。Ex vivo 器官培養においてMcp-5 は長管骨の長軸方向への成長を抑制した。in vitro ではMEF でIkkβをノックアウトすることでMcp-5 の発現が増加し、IkkβはMcp-5 の発現を細胞自律的に抑制していることがわかった。

以上の研究は長管骨成長板における内軟骨性骨化の分子機構の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成27年4月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公表可能日　　年　　月　　日